

Über das Calotropagenin und Uscharidin

(Auszug)

der Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Friedrich - Alexander - Universität Erlangen

zur

ERLANGUNG DES DOKTORGRADES

vorgelegt von

Friedrich Brunner
aus Nürnberg

Druck: H. & W. Titze, Roth b. Nbg. Abenberger Str. 11
Fernruf 961 und 902

1961

1961 No 12

Als Dissertation genehmigt von der
Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Erlangen



Tag der mündlichen Prüfung: **22. Februar 1961**

Dekan:

Universitätsprofessor Dr. G. Hesse

Berichterstatter:

Universitätsprofessor Dr. G. Hesse

Berichterstatter:

Universitätsprofessor Dr. O. Dann

Über das Calotropagenin und Uscharidin

Durch Vergleich des IR-Absorptionsspektrums des Calotropagenins mit den Spektren bekannter Genine konnte auf die Struktur eines 3(β), 11(α), 14(β)-Trihydroxy-19-oxo-5(α)-card-20(22)-enolids geschlossen werden. Die Isolierung einer Dicarbonsäure, in Form ihres Bis-dicyclohexylammoniumsalzes, als Perjodsäure-Erstabbauprodukt des "Uscharidin - Zuckers" lieferte weiterhin einen Beweis für das Vorliegen eines 1'-Methyl-cyclopentandion-(2',4')-ols(3') im "Zuckerteil" des Uscharidins.

Beim Calotropagenin, dem Aglykon der Herzgifte aus dem Milchsafte von *Calotropis procera*, wurde bereits in früheren Arbeiten ¹⁾²⁾ durch Vergleich der UV-Spektren und der Drehungswerte eine trans - Verknüpfung der Ringe A und B vermutet. Daneben stand noch keineswegs fest, ob die Ringe C und D des Steringerüsts nicht möglicherweise vertauscht sein könnten ³⁾⁴⁾. Von den drei Hydroxylgruppen des Moleküls waren die 14(β) - Stellung der tertiären und die 3(β) - Stellung der einen sekundären OH - Gruppe zum Zeitpunkt der Niederschrift dieser Arbeit bereits als gesichert anzusehen ¹⁾. Bei der anderen sekundären Hydroxylgruppe war an Hand der Geschwindigkeit ihrer CrO_3 - Oxydation ebenfalls auf eine äquatoriale Konfiguration geschlossen worden, wobei jedoch eine 11(α) - eine 12(β) - und sogar eine 6(α) - Stellung diskutiert wurden ¹⁾⁵⁾⁶⁾⁷⁾⁸⁾.

Wir haben nun im folgenden versucht, diese noch strittigen Fragen hinsichtlich der Stereochemie des Calotropagenins auf IR-spektroskopischen Wege zu lösen. Zu diesem Zweck verglichen wir die IR-Spektren des Genins und verschiedener seiner Derivate mit denen von Herzgiftgeninen und Sterinen bekannter Konformation. Tab. I gibt einen Überblick über die getroffenen Zuordnungen:

- 1) G. LETTENBAUER, Dissertation Erlangen 1958
- 2) G. HESSE, W. GEIGER u. G. LETTENBAUER, Liebigs Ann. Chem. 625,167(1959)
- 3) G. HESSE, W. GEIGER, G. LETTENBAUER u. H. SCHILDKNECHT, Naturwissensch. 44, 328 (1957)
- 4) G. HESSE, Angew. Chem. 71, 223 (1959)
- 5) R. TSCHESCHE u. a., Naturwissensch. 46, 263 (1959)
- 6) G. GRIMMER, Angew. Chem. 69, 400 (1957)
- 7) C.H. HASSALL u. K. REYLE, J. Chem. Soc. (London) 1959, 85
- 8) CH. TAMM, bei L. Zechmeister, Fortschr. Chem. organ.Naturstoffe, Bd. 14, S. 71 ff (1957)

Tabelle I 9)10)

$\bar{\nu}_{\max}$ (cm^{-1})	Schwin- gungstyp	Zuordnung	Vergleichsspektren in der Literatur
2935	<u>CH -</u>	S t e r i n -	Uzarigenin u. Derivate: (11)
2865	<u>stretch.</u>	G r u n d -	Androstan: (12, 14); (13), 1099
1478	<u>CH - "in-</u>	g e r ü s t	Methyl-hydrindandion- (1,4):
1472	plane" u.		(13)
1465	"out-of-		Hexahydroindanderivate: (13)
1454-	plane" -		Dekalin: (13, 15)
1451	<u>deform.-</u>		Methyldekalin: (13)
1444	Schwin- gungen		
1383	<u>CH -</u>		
1345	<u>bending</u>		
1324			
1263	<u>C-C -</u>		
1248	<u>Gerüst-</u>		
1210			
1193	Schwin-		
1172	gungen		
1162			
1141			
1127			
1110	und		Vergleiche hierzu
998			auch (16) und (17)
984			
949			
927	<u>CH -</u>		
899	<u>rocking-</u>		
878			
858	Schwin-		
934	gungen		
905			
867			
849			
760-			
754			
740			
733			
720			
705			
1078	<u>C-O -</u> <u>stretch.</u>	<u>3(β)-Hydroxy-</u> <u>5(α)-Gruppier.</u>	Androstanol, Cholestanol Ergostanol: (13)
1042	C-O/C-C - Koppelung	(Schlüssel- banden für A/B - Trans- Verknüpfung)	Uzarigenin: (11) Xysmalogenin: (18) Vergleiche hierzu auch: (12, 14 - 16, 19 - 21)

3410	<u>OH -</u> stretch. (assoz.)	Schlüssel- banden für die <u>11(α)-</u>	<u>11(α)-Hydroxypregnen-(4)- dion - (3,20): (13), 4556</u> Andere 11(α)-Hydroxy-Steroide: <u>(16)</u> , 478, 481, 535, 541
1279	<u>OH -</u> deform.	<u>Hydroxyl-</u> <u>gruppe</u>	
1058	<u>C-O -</u> stretch.		
1031	<u>C-O/C-C -</u> gekoppelt		

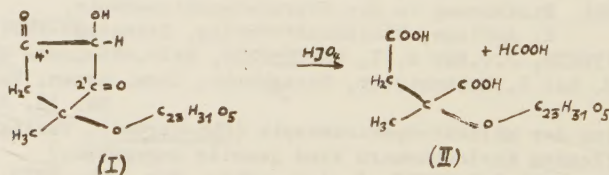
Die oben aufgeführten Wellenzahlwerte für die charakteristischsten Absorptionsbanden des Calotropagenins zeigen praktisch eine völlige Übereinstimmung mit den entsprechenden Banden bei den angegebenen Vergleichssubstanzen. Auf Grund dessen erscheint uns einmal die normale Anordnung der Ringe C und D im Steringrundgerüst des Calotropagenins als die wahrscheinlichste ³⁾⁴⁾. Zum andern kann die t r a n s - Verknüpfung der Ringe A und B durch die beiden Schlüsselbanden für die 3(β)-Hydroxy-5(α)-Gruppierung als gesichert angesehen werden. Die 11(α)-Stellung der zweiten sekundären Hydroxylgruppe im Genin, die auch bereits von G.

- 9) L.J. BELLAMY, The Infra-red Spectra of Complex Molecules
2nd edition, Methuen-Wiley, London-New York 1958/59
- 10) W. BRÜGEL, Einführung in die Ultrarotspektroskopie,
2. Auflage, Steinkopff-Verlag, Darmstadt 1957
- 11) A. KURITZKES, J.v.Euw u. T. REICHSTEIN, Helv.chim.Acta 42, 1502 (1959)
- 12) A.R.H. COLE, bei L. Zechmeister, Fortsch. Chem. organ. Naturstoffe,
Bd. 13, S.1 ff (1956)
- 13) Dokumentation der Molekül-Spektroskopie (DMS-Kartei), Verlag Chemie;
(Die betreffenden Kartennummern sind jeweils angegeben.)
- 14) R.N. JONES and A.R.H. COLE, J. Amer. Chem. Soc. 74, 5571, 5648, 5662
(1952)
- 15) Spektrensammlung des Instituts für organ. Chemie der Univ. Erlangen
(Die betreffenden Spektrennummern sind jeweils angegeben.)
- 16) G. ROBERTS, B.S. GALLAGHER and R.N. JONES, Infrared Absorption
Spectra of Steroids (An Atlas), Vol. II, New York-London 1958
(Die betreffenden Spektrennummern sind jeweils angegeben.)
- 17) R. MECKE et al., Chem. Ber. 90, 977 (1957)
- 18) W. SCHMID, H.P. UEHLINGER, CH. TAMM u. T. REICHSTEIN,
Helv. chim. Acta 42, 72 (1959)

LETTENBAUER in Erwägung gezogen worden war ¹⁾, möchten wir nunmehr an Hand der Vergleichsspektren ebenfalls als die wahrscheinlichste Gruppierung ansprechen. Betrachtet man zusätzlich noch die Spektren der Acetylderivate des Calotropagenins ¹⁵⁾, so zeigt sich die Übereinstimmung der Frequenzen der OH-, O-Acetyl-, C-O - und C-O/C-C - Schwingungen des Calotropagenins und seiner Acetylderivate mit den entsprechenden Banden von 11(α)-Hydroxy- bzw. 11(α)-Acetoxy-Steroiden noch deutlicher, während die Wellenzahlwerte für 12(β)- und 6(α)-Hydroxy- bzw. Acetoxy-Steroide merklich davon abweichen. 13)15)16)22 - 25)

Zusammenfassend kann also gesagt werden, daß an Hand der IR-Absorptionsbanden des Calotropagenins und entsprechender Vergleichssubstanzen auf die Struktur eines 3(β), 11(α), 14(β)-Trihydroxy-19-oxo-5(α)-card-20(22)-enolids geschlossen werden muß.

Das U s c h a r i d i n enthält einen "entarteten" Desoxy-Zucker, der mit dem Calotropagenin in der 3(β)-Stellung über eine Ätherbrücke verknüpft ist. Die an diesem Desoxy-Zucker i n s i t u vorgenommenen Abbauprobe mit Borax oder mit Perjodsäure ließen erkennen, daß derselbe ein Methylcyclopentanskelett besitzt und praktisch als ein α-Hydroxy-β-Diketon (I) reagiert: 1)26 - 31)



19) R.N. JONES and F. HERLING, J. org. Chem. 19, 1254 (1954)

20) J.H. RUSSEL, O. SCHINDLER u. T. REICHSTEIN, Helv. chim. Acta 43, 167 (1960)

21) W. NAGATA, CH. TAMM u. T. REICHSTEIN, Helv. chim. Acta 42, 1399 (1959)

22) CH. TAMM, G. VOLPP u. G. BAUMGARTNER, Helv. chim. Acta 40, 1469 (1957)

23) G. VOLPP u. CH. TAMM, Helv. chim. Acta 40, 1860 (1957)

24) O. SCHINDLER, Helv. chim. Acta 39, 2022 (1956)

25) H. KÜNDIG-HEGEDÜS u. O. SCHINDLER, Helv. chim. Acta 39, 904 (1956)

Von einer derartigen Gruppierung ist bekannt, daß sie sich in übersichtlicher Weise mit Perjodsäure abbauen läßt, ohne daß dabei das Genin selbst angegriffen wird ³²⁾³³⁾. Theoretisch muß dabei beim "Uscharidin-Zucker" die Bildung einer Dicarbonsäure (II) gefordert werden. Daß diese mit Calotropagenin an C-1' verätherte Citramalsäure jedoch nicht frei vorliegt, sondern in der Hauptsache in Form ihres Anhydrids, schlossen G. HESSE und W. GEIGER daraus, daß zu der Methylierung mit Diazomethan Wasser notwendig ist, das erst die Anhydridbindung lösen muß ²⁸⁾²⁹⁾. So konnten sie aber bei der Umsetzung des neutralen Abbauproduktes mit feuchtem Diazomethan lediglich die C-4'-Carboxylgruppe verestern, während die C-2'-Carboxylgruppe mit der C-19 - Aldehydgruppe des Genins eine relativ feste Lactolbindung einzugehen scheint.

Wir haben nun versucht, die theoretisch geforderte Dicarbonsäure (II) in Form eines definierten Derivates, z.B. eines Disalzes, zu isolieren und somit auch die oxydative Bildung einer C-2'-Carboxylgruppe einwandfrei zu beweisen. Zu diesem Zweck arbeiteten wir den Perjodsäureabbau des Uscharidins in wasserhaltigem Dioxan nach, wobei wir als Erstabbauprodukt ein Gemisch aus drei verschiedenen polaren Substanzen erhielten, welche zwar alle drei kedde-aktiv waren, von denen aber nur die polarste Verbindung sofort mit dem Carbonsäurereagens nach K. SCHLÖGL unter Blaufärbung reagierte ³⁴⁾, während die beiden weniger polaren Substanzen erst nach fünf Minuten und Erwärmen eine allmählich einsetzende Reaktion zeigten. Diese auffällige, zeitabhängige Farbreaktion zeigt ebenfalls, daß in dem erhaltenen Perjodsäure-Erstabbauprodukt die freie Dicarbon-

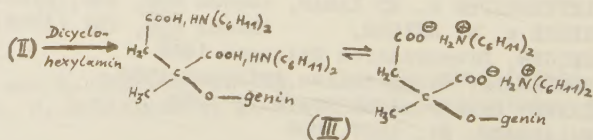
-
- 26) G. HESSE u. G. LETTENBAUER, Liebigs Ann. Chem. 623, 142 (1959)
 - 27) G. LETTENBAUER u. A. ZAMAN, ebenda 625, 140, (1959)
 - 28) G. HESSE u. W. GEIGER, ebenda 625, 161 (1959)
 - 29) W. GEIGER, Dissertation Erlangen 1958
 - 30) A. ROHDEWALD, Dissertation Erlangen 1955
 - 31) H. KRAMB, Dissertation Freiburg 1952
 - 32) M.L. MALAPRADE, Bl. 1937, 906
 - 33) H. ROTH u.a., in HOUBEN - WEYL, Methoden der organ. Chemie, Bd. II, Analyt. Methoden, (1953) S. 360
 - 34) K. SCHLÖGL, Naturwiss. 46, 447 (1959)

säure (II) praktisch nicht vorliegt; bei dem schwach sauer reagierenden, polarsten Produkt handelt es sich offenbar um eine Lactolsäure mit freier C-4'-Carboxylgruppe. Die anderen beiden scheinen die Anhydrid- bzw. die Dilactonform zu sein.

Zur Lösung der Lactolbindung und zur Fixierung der beiden Carboxylgruppen in Salzform setzten wir das erhaltene Gemisch mit Dicyclohexylamin um. Dieses Reagens war vorher bereits von F. WEYGAND mit großem Erfolg zur Isolierung verschiedener schwer zugänglicher Carbonsäuren herangezogen worden 35).

Nachdem vorher in Modellversuchen die besten Reaktionsbedingungen ermittelt worden waren, führten wir die Umsetzung des Erstabbauproduktes mit einem geringen Überschuß an Dicyclohexylamin in wasserhaltigem Medium durch. Dadurch konnte eine vollständige Lösung der Anhydrid- und Lactolbindungen gewährleistet werden, ohne daß die Gefahr einer Decarboxylierung bestand. So gelang es uns, mit nahezu 70-prozentiger Ausbeute ein beständiges, gut kristallisierendes Derivat zu isolieren, welches nach dem Papierchromatogramm ein einheitliches Herzgift darstellt und auf Grund seiner Eigenschaften (Analyse, Schmelzpunkt, IR- und UV-Spektrum) als das gesuchte Bis-dicyclohexylammoniumsalz der Uscharidin-Dicarbonsäure (III) (abgek. "UdS") anzusprechen ist. Es reagiert auch völlig neutral; so konnte mit dem SCHLÖGL'schen Säurereagens keine Blaufärbung festgestellt werden.

Wie dieses Ergebnis beweist, muß es sich bei den bei der Perjodsäure-Oxydation zuerst erhaltenen Produkten tatsächlich um Derivate der Dicarbonsäure (II) gehandelt haben, da sie sich mit Dicyclohexylamin, offensichtlich über die intermediär entstehende freie Säure, zu einem einheitlichen Produkt umgesetzt haben.



35) F. WEYGAND et al., Chem. Ber. 88, 26 (1955), 89, 653, (1956)
90, 634, 1896 (1957)
91, 1037 (1958)

Die Salzbildung ist bis zu einem gewissen Grad umkehrbar. Nach den Erfahrungen von F. WEYGAND und Mitarbeitern ist es nämlich grundsätzlich möglich, aus Dicyclohexylammoniumsalzen durch Behandlung mit Ionenaustauschern die betreffenden Carbonsäuren wieder in Freiheit zu setzen ³⁵⁾. Behandelt man somit eine wässerig-methanolische Lösung des Uscharidin-Salzes mit der H^+ -Form eines stark sauren Austauschers, z.B. mit "Amberlite IR-112", so erhält man zu etwa zwei Drittel jenes oben beschriebene Erstabbauprodukt zurück. Dieses Ergebnis beweist wiederum, daß es sich bei den erhaltenen drei verschiedenen polaren Substanzen um Derivate der hypothetischen Uscharidin-dicarbonsäure handeln muß. Bei dem restlichen Drittel der theoretisch erwarteten Spaltsäuremenge erfolgte durch die Säurewirkung des Ionenaustauschers unter gleichzeitiger Decarboxylierung eine Ätherspaltung. Wir konnten nämlich nach Auswaschen des Ionenaustauschers nahezu reines Calotropagenin, sowie eine geringe Menge einer sauren Substanz isolieren, bei der es sich um β -Hydroxybuttersäure handelte, die noch mit etwas Crotonsäure verunreinigt war. CO_2 konnte allerdings unter den gegebenen Versuchsbedingungen nicht nachgewiesen werden. Diese hydrolytische Ätherspaltung entspricht im wesentlichen den Ergebnissen von G. HESSE und W. GEIGER bei der sauren Hydrolyse des Uscharidin-dicarbonsäure-monomethylesters ²⁸⁾²⁹⁾.

Behandelten wir das Uscharidin-Salz in wasserhaltigem Methanol unter gleichzeitigem gelinden Erwärmen mit Diazomethan, so erhielten wir drei Methylierungsprodukte, die auf Grund ihrer verschiedenen Polarität entweder chromatographisch oder besser durch Digerieren mit verschiedenen Lösungsmitteln recht gut zu trennen waren. So konnte das Hauptprodukt "ME-2" schließlich herzogiftrein in genügender Menge erhalten werden. Es erwies sich an Hand seiner Eigenschaften (Löslichkeit, Schmelzpunkt, Analyse, Papierchromatogramm, sowie IR-Spektrum) als ein Monomethylester - monodicyclohexylammoniumsalz der Uscharidin-dicarbonsäure.

Damit war es aber identisch mit dem Mono-dicyclohexylammoniumsalz, welches wir durch Umsetzung des von G. HESSE und W. GEIGER dargestellten Uscharidin-dicarbonsäure-monomethylesters ²⁸⁾²⁹⁾ mit Dicyclohexylamin

erhalten hatten. Durch die Isolierung des Bis-dicyclohexylammoniumsalzes der beim Perjodsäure-Abbau des Uscharidins theoretisch zu erwartenden Dicarbonsäure konnte zum erstenmal neben der schon früher bewiesenen C-4'-Carboxylgruppe jetzt auch die C-2'-Carboxylgruppe sicher nachgewiesen werden. Damit gelang es weiterhin, einen neuen Beweis zu erbringen für das Vorliegen eines 1'-Methyl-Cyclopentandion-(2',4')-ols(3') als Reaktionsform des "Uscharidinzuckers".

Bei dieser Form muß noch die freie, anguläre 10 β -Aldehydgruppe im Genin vorhanden sein. Im IR-Absorptionsspektrum des Uscharidins finden sich auch die entsprechenden charakteristischen Aldehydbanden:

2720 cm ⁻¹	CH - Valenzschwingung
1718 "	C=O - Streckschwingung
1410 "	C-H/C-C/C=O - Kombinationsschwingung

Wegen der Ausbildung eines auffallend langgezogenen Flecks im Papierchromatogramm auf Formamid und wegen des Auftretens von jeweils ganz verschiedenen Carbonylabsorptionen im Ultraviolett Spektrum zwischen 250 und 350 m μ muß das Uscharidin jedoch als ein tautomerer Stoff angesehen werden ²⁶⁾. Offensichtlich besteht in Lösung ein echtes tautomeres Gleichgewicht zwischen der oben beschriebenen freien α -Hydroxy- β -dicarbonyl-Gruppierung sowie einer Redukton- und einer Halbacetalform, wobei die Gleichgewichtslage vom Lösungsmittel abhängig ist ²⁶⁾. Im festen Zustand dagegen scheint es sich um ein Mischkristallisat dieser tautomeren Formen zu handeln, wie das IR-Spektrum des Uscharidins deutlich zeigt. Hier findet man nämlich noch folgende charakteristische Absorptionsbanden, welche der Halbacetalbindung von C-3' nach C-19 zuzuordnen sind: 9)10)36 - 38)

2780 cm ⁻¹	CH - Valenzschwingung
1418 "	CH/C-C/C-O - Kombinationsschwingung (?)
1125 ")	(C-O-C-O-) - Valenzschwingungsdublett
1090 ")	
1067 "	C-O - Valenzschwingung (C-19-OH)
1037 "	C-O/C-C - Kopplungsschwingung (C-19-OH)

- 36) H. TSCHAMLER u. R. LEUTNER, Mh. Chem. 83, 1502 (1952)
 37) W. BRÜGEL u. R. OSTER, Angew. Chem. 68, 441 (1956)
 38) F. BRUNNER, Diplomarbeit Erlangen 1959

Lebenslauf

Am 14. März 1932 wurde ich als Sohn des Lehrlingsausbilders Luitpold Brunner und seiner Ehefrau Elisabeth, geb. Leykauf, in Nürnberg geboren.

Nach vier Klassen Volksschule besuchte ich von 1942 bis 1951 die Wölkern-Oberrealschule in Nürnberg, wo ich im Juli 1951 die Reifeprüfung ablegte.

Im Wintersemester 1951/52 immatrikulierte ich mich an der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen zum Studium der Naturwissenschaften, von dem ich im Sommersemester 1952 wegen Werkarbeit bei der Siemens-Schuckertwerke A. G. in Nürnberg beurlaubt war. Im Wintersemester 1952/53 begann ich das Studium der Chemie und unterzog mich am 15. Juli 1955 der Diplom-Chemiker-Vorprüfung. Am 10. Dezember 1957 legte ich den mündlichen Teil der Diplom-Chemiker-Hauptprüfung ab. Nach Abschluß der Diplomarbeit als Mitarbeiter von Herrn Prof. Dr. G. Hesse erhielt ich am 19. Februar 1959 mein Diplomzeugnis ausgestellt.

